ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1960 N° 46

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE DE NEWCASTLE

Souche Hitchner B1 par Aérosols

THESE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Décembre 1960
devant la
Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

JÉROME, RENÉ VITRÉ

Né le 18 Octobre 1935, à Spezet (Finistère)

Président : M. ANDRIEU, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Assesseurs { M. SAURAT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. LAUTIE, Agrégé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

---

IMPRIMERIE PARISIENNE
16, Place du Salin, 16
TOULOUSE
—
1960

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

de

La Vaccination contre la Maladie de Newcastle

Souche Hitchner B_1 par Aérosols

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548920_0096

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1960 N° 46

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE DE NEWCASTLE

Souche Hitchner B1 par Aérosols

THESE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Décembre 1960

devant la

Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

JÉROME, RENÉ VITRÉ

Né le 18 Octobre 1935, à Spezet (Finistère)

Président : M. ANDRIEU, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Assesseurs { M. SAURAT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. LAUTIE, Agrégé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

IMPRIMERIE PARISIENNE

16, Place du Salin, 16

TOULOUSE

—

1960

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

	MM.
Directeur	PONS.
Professeur Honoraire	LASSERRE.

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS

Physique et Chimie Biologique Pharmacie et Toxicologie Hygiène du Lait	GODFRAIN
Anatomie descriptive - Extérieur Anatomie appliquée	BLIN
Physiologie et Thérapeutique Pharmacodynamie	LE BARS
Histologie - Embryologie Anatomie Pathologique Inspection des Viandes	LOMBARD.
Zoologie appliquée - Botanique Parasitologie Externe Parasitologie Interne	BRIZARD.
Pathologie médicale des Equidés et Carnivores Législation Vétérinaire	DARRASPEN.
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	TOURNUT.
Technique chirurgicale Pathologie chirurgicale	PUGET
Pathologie de la Reproduction Obstétrique	BERTHELON
Microbiologie - Immunologie Maladies Contagieuses Police sanitaire	SAURAT.
Ethnologie Hygiène Agronomie Alimentation Zootechnie Economie rurale	PONS.

CHEFS DE TRAVAUX

Maladies Contagieuses	LAUTIÉ, Agrégé.
Zootechnie	FALIU, Agrégé
Pathologie Médicale - Législation Vétérinaire	LESCURE. Agrégé
Anatomie Pathologique	GOULARD.
Pathologie Chirurgicale	CAZIEUX.
Pathologie de la Reproduction	ROYAL.
Chimie	MILHAUD

COURS COMPLEMENTAIRES
CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Radiologie	AUVERGNAT.
Droit Vétérinaire	LINON.
Botanique	MORQUER.
Pisciculture	SECONDAT.
Agronomie	BRISEBOIS.
Economie Rurale	MONTANÉ DE LA ROQUE.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

ASSISTANT

Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	LACAZE.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS

Qu'ils trouvent ici un faible témoignage de ma reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils se sont imposés.

A MA FEMME

Avec tout mon amour.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRIEU

de la Faculté de Médecine de Toulouse.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR SAURAT

de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse.

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et nous a toujours éclairé de ses bienveillants conseils.

Témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

MONSIEUR LAUTIÉ, Agrégé

à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse.

Qui a eu la bienveillance d'accepter de participer à notre jury.

Hommages respectueux.

INTRODUCTION

La Maladie de Newcastle est une des maladies les plus redoutées des aviculteurs. Elle est d'un pronostic économique d'autant plus grave qu'elle résiste à tous les traitements.

La gravité de la M.N. (Maladie de Newcastle) incita, en 1948, le Ministre de l'Agriculture à soumettre cette affection à la législation propre aux maladies réputées légalement contagieuses.

Cependant, la M.N. ne sévit en France à l'heure actuelle que sous une forme chronique à allure sporadique et on ne peut en faire le diagnostic certain que dans des laboratoires spécialisés.

En dehors de nos frontières, il en va tout autrement : la M.N. y sévit sous une forme aiguë et épizootique. C'est ainsi qu'en 1959, une épidémie dans l'Est de l'Angleterre a causé la mort de plus de 5 millions de volailles, coûtant au Gouvernement anglais plus de 40 millions de nouveaux francs versés à titre de compensation. En Belgique, en Hollande, en Espagne, aux Etats-Unis et dans bien d'autres pays, la M.N. cause également des pertes très sévères. Ce qui faisait écrire à un chroniqueur avicole dans une revue spécialisée : « Ils agissent comme s'ils ignoraient la vaccination préventive ! »

En effet, il est possible de vacciner efficacement et, à notre avis, c'est le moyen de lutte le plus efficace contre la M.N.

Les travaux dont nous faisons état dans cette thèse ont trait à la vaccination des jeunes par un virus-vaccin vivant : la souche Hitchner B_1.

Dans une première partie, après quelques rappels sur la M.N., nous avons résumé l'étude bibliographique que nous avons fait de ce vaccin. Les conclusions de cette étude bibliographique nous permirent d'organiser nos recherches expérimentales sur les différentes voies d'administration du vaccin, la durée de l'immunité, les possibilités de vaccination des poussins aux différents âges et les modalités de l'administration du vaccin par aérosol.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LA MALADIE DE NEWCASTLE

La Maladie de Newcastle ou Pseudo-Peste aviaire est une maladie réputée légalement contagieuse, virulente et inoculable, due à un ultra-virus spécifique, atteignant électivement les oiseaux et caractérisée du point de vue clinique par un grand polymorphisme et par des lésions hémorragiques.

1° Historique

En 1900, Centanni isole en Italie un ultra-virus au cours de l'évolution d'une maladie très meurtrière sur les volailles. Cette maladie est appelée Peste aviaire. Le virus isolé par Centanni est caractérisé et retransmet la maladie. On considère à cette date qu'il y a une seule Peste aviaire et que le virus en cause est unique.

En 1926, Doyle, étudiant une épidémie aviaire dans le district de Newcastle, isole un autre virus spécifique différent du virus de Centanni du point de vue immunologique. Il conclut à l'existence de deux sortes de pestes dont les manifestations cliniques sont très voisines mais qui sont dues à des virus différents :

l'une est la Peste vraie,

l'autre la Maladie de Newcastle.

A l'heure actuelle, ces deux formes de peste sont réparties comme suit :

Peste vraie: n'existe guère que dans le Moyen-Orient et en Italie;

Maladie de Newcastle: on la rencontre dans les autres pays d'Europe et en Amérique. En France, elle est en régression et on ne note que quelques cas sporadiques.

2° Épidémiologie

La Maladie de Newcastle (M.N.) peut se présenter sous une forme épizootique hautement contagieuse et très meurtrière.

Cependant, actuellement, elle se présente surtout sous une forme enzootique à évolution lente. La maladie suit un rythme encore mal défini dont la période s'échelonne sur une dizaine d'années et qui semble s'apparenter à celui de la fièvre aphteuse. La maladie atteint des animaux de tous âges et peut apparaître en toute saison.

3° Étiologie

Le virus

Le virus de la M.N. mesure environ 100 millimicrons. Il cultive sur œuf embryonné de dix jours; l'embryon et les milieux de l'œuf sont virulents à la dilution de 10^{-9}. L'embryon de dix jours est tué en deux à trois jours. Le virus agglutine les hématies de poulet.

Le pouvoir pathogène

Il est très variable, aussi bien qualitativement que quantitativement : la virulence varie selon les espèces d'oiseaux et même selon les tissus; elle varie également selon la souche de virus en cause. On a ainsi isolé des souches de virus faibles et des souches de virus forts, les moins virulentes de ces souches pouvant être vaccinantes (en effet, la maladie est suivie d'immunité après guérison).

Matières virulentes

Tous les tissus infectés, toutes les sécrétions et excrétions de l'organisme atteint sont hautement virulents.

Résistance du virus

Le virus est immédiatement détruit à 100°C; il est sensible à la plupart des antiseptiques.

Voies de pénétration

Elles sont très diverses; la voie la plus défavorable pour transmettre l'infection est la voie digestive. La voie de prédilection est la voie respiratoire.

4° Symptômes

La durée de l'incubation est au minimum de quatre jours et au maximum de onze jours dans les conditions naturelles; puis, la M.N. évolue en trois phases :

Phase d'invasion

Elle est caractérisée par des signes généraux non spécifiques: l'animal atteint se met en boule et présente un état typhique très accusé.

Phase d'état

La maladie se présente sous des formes diverses et l'on peut observer des troubles respiratoires, digestifs ou nerveux. Ces troubles peuvent être observés seuls ou diversement associés. Dans un tableau clinique complet, on les observerait successivement dans l'ordre suivant : d'abord les troubles respiratoires, puis les troubles digestifs et enfin les troubles nerveux.

a) *Troubles respiratoires.*

L'animal a le cou tendu et le bec entr'ouvert, il respire difficilement, présente de la dyspnée, de la polypnée et on entend des râles sonores.

b) *Troubles digestifs.*

Sur la litière, on peut voir des excréments diarrhéiques de couleur jaunâtre puis verdâtre. Les plumes péri-anales des animaux atteints sont souillées.

c) *Troubles nerveux.*

Ils se manifestent de façons très diverses lorsque la maladie se prolonge un peu. On peut voir des boiteries, l'animal s'appuie sur son aile et a des difficultés à se déplacer. On note plus fréquemment des ports anormaux de la tête et un torticolis. Dans les formes chroniques, on voit quelques animaux boiteux dans le troupeau.

Phase terminale

L'affection se termine habituellement par la mort du sujet atteint. La guérison, lorsqu'elle se produit, fait suite à une convalescence longue et la maladie laisse des séquelles qui compromettent l'avenir économique du sujet.

Évolution :

Elle est plus ou moins rapide et se fait selon trois modalités :

— *forme aiguë:* la mort survient deux à quatre jours après les premiers symptômes;

— *forme suraiguë :* la mort survient en douze à vingt-quatre heures;

— *forme chronique :* l'évolution est plus longue. La maladie se caractérise par des troubles respiratoires et surtout nerveux dont l'animal peut guérir.

5° Pronostic

Le pronostic est très grave, car les animaux qui résistent à la M.N. ont une guérison lente. Si la maladie sévit sur des pondeuses, la ponte devient nulle pendant un à

deux mois et les œufs produits par la suite sont peu nombreux et anormaux.

6° Lésions

Elles sont caractéristiques lorsqu'elles existent.

a) *Lésions digestives*

Ce sont des lésions hémorragiques diverses :

— pétéchies au cloaque;

— points hémorragiques sur les papilles internes du ventricule succenturié;

— on peut aussi trouver des ulcères nécrotiques plus ou moins nombreux sur toute la longueur du tube digestif.

b) *Lésions cardiaques*

Aux sillons vasculaires et sur le péricarde, on trouve d'une manière à peu près constante de fines pétéchies.

c) *Lésions respiratoires*

Elles sont peu caractéristiques et l'on peut trouver des exsudats muqueux dans le larynx et la trachée.

d) *Lésions nerveuses*

Elles sont microscopiques. Il y a des infiltrations lymphocytaires avec dégénérescence des cellules nerveuses et des lésions de neuronophagie.

D'une manière générale, le foie, la rate, les reins et les ovaires sont intacts.

7° Diagnostic

Il repose sur l'épidémiologie, l'existence d'un ou plusieurs symptômes, d'une ou plusieurs lésions. En région indemne, le diagnostic expérimental doit toujours être assuré ; il en est de même lors de formes enzootiques.

Le diagnostic expérimental peut être réalisé de quatre façons :

a) Culture sur œuf embryonné de dix jours d'un filtrat d'organe de l'animal suspect : l'embryon meurt en quarante-huit heures environ avec lésions congestives et hémorragiques.

b) Inoculation expérimentale de filtrats d'organes ou de sérum d'un animal atteint à un animal sain en vue de provoquer la maladie expérimentale. Celle-ci évolue après une incubation de quatre à cinq jours.

c) Réaction d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) : le virus de Newcastle agglutine rapidement les hématies d'oiseaux, or cette agglutination est inhibée par le sérum anticorrespondant. Si l'on met donc en présence le virus isolé de l'animal suspect, un sérum d'animal immunisé préalablement titré et une solution d'hématies, on peut caractériser le virus, ou inversement, établir la nature pestique du sérum suspect si l'on met en présence du virus de Newcastle et des globules rouges d'oiseaux.

d) Réaction de séroneutralisation : on neutralise le pouvoir pathogène du virus par le sérum anticorrespondant.

De ces quatre moyens de diagnostic, nous ne retiendrons que le premier et le troisième.

Il n'existe aucun traitement de la Maladie de Newcastle.

8° Prophylaxie

La prophylaxie est faite en France à l'échelle nationale: depuis 1948, la peste aviaire est réputée maladie légalement contagieuse sous toutes ses formes. Théoriquement, on pourrait vaincre la M.N. par la méthode dite du « Stamping out »; mais pratiquement, cela n'est pas possible car tous les foyers ne sont pas connus. L'aviculteur cache l'existence de la M.N. dans son élevage par tous les moyens et son attitude, toute illégale qu'elle soit, n'en est pas moins très compréhensible. En effet, il peut espérer être indemnisé des pertes subies après abattage et destruction de son troupeau (arrêté du 4 avril 1959), mais il se voit obligé de perdre une saison de travail et de repartir l'année suivante sans argent, sans clientèle. Une déclaration de M.N. équivaut pratiquement pour l'aviculteur à une déclaration de faillite. En cas d'épidémie, il est donc indispensable de vacciner les animaux menacés; de nombreux aviculteurs vaccinent d'ailleurs leur troupeau de façon régulière.

La prophylaxie médicale est efficace.

La M.N., lorsqu'elle guérit, laisse après elle une immunité solide et durable. Cette immunité se transmet de la mère au poussin qui se trouve protégé pendant trois semaines environ (Brandly).

« Les vaccins contre la M.N. ont été classés sur la base de leur fabrication à partir de virus tué ou de virus vivant et aussi d'après leur mode d'administration: intramusculaire, intranasale, sous-cutanée ou autre. Les vaccins à base de virus tué sont habituellement administrés par voie intramusculaire; les vaccins à virus vivant sont

habituellement administrés par voie cutanée, par la méthode de piqûre à la membrane alaire dite « stick method ». Le vaccin vivant fait à partir du virus B_1 est administré par voie respiratoire et le plus souvent comme vaccin intranasal » écrit en 1955 E.-P. Johnson.

Actuellement, nous avons à notre disposition, en France, trois vaccins que nous allons étudier successivement :

a) Les vaccins à base de virus tué par le formol et adsorbé sur hydroxyde d'alumine, communément dénommés « vaccins formolés et adsorbés ».

Ces vaccins ont une inocuité absolue et peuvent être utilisés sur des animaux de tous âges.

Si l'on pratique une seule injection, l'immunité est insuffisante au bout de cinq semaines. Si l'on pratique deux injections à quinze jours d'intervalle, l'immunité est de trois mois environ (Van Waveren). Cette méthode de vaccination fut pratiquée en 1950 et 1951 par les Services Vétérinaires Hollandais en anneau autour des foyers et en masse dans les districts menacés. Au bout de trois mois, on ne note pas d'échecs de vaccination.

Le vaccin formolé et adsorbé est toujours très utilisé, car :

— il est inoffensif et peut être utilisé pour immuniser les poussins;

— il confère une immunité solide;

— son emploi est pratique; tous les vétérinaires ont maintenant une seringue automatique permettant de faire des injections en série aux volailles.

Toutefois, on peut reprocher à ce vaccin de susciter une immunité tardive et de courte durée.

En 1959, Jacotot et Vallée ont expérimenté un vaccin formolé en excipient huileux qui, utilisé en injection intramusculaire de la même façon que le vaccin précédent, protège le poulet pendant plus d'une année.

b) « La souche Beaudette ». — Cette souche de virus isolée par Beaudette en 1949 aux Etats-Unis, est un virus naturellement atténué que l'on utilise pour la vaccination contre la M.N. Le vaccin est réalisé par lyophilisation du liquide chorio-allantoïdien de culture de ce virus. Ce vaccin est administré par piqûre à la membrane alaire. L'immunité s'installe vers le quatrième jour qui suit la vaccination. Elle est très solide et dure au moins un an.

Mais on ne peut vacciner des sujets de moins de deux mois, car le virus de la souche Beaudette est trop virulent pour le poussin. De plus, sur des poulets de plus de deux mois, on note des accidents fréquents avec un ralentissement de la croissance et une mortalité atteignant 3 % (Van Waveren). Enfin, lorsque l'on vaccine des pondeuses, il faut prévoir une baisse de ponte de 10 à 50 % pendant une à quatre semaines. Ayant nous-même vacciné à plusieurs reprises différents lots de pondeuses avec la souche Beaudette, nous avons constaté que la moindre déficience des sujets augmente encore la gravité de ces accidents post-vaccinaux.

c) « La souche Hitchner B_1 ». — C'est une souche de virus naturellement atténuée, découverte aux Etats-Unis en 1948 par Hitchner. Cette souche étant l'objet de tous les travaux que nous avons effectués sur la

vaccination contre la M.N., nous en donnons les caractéristiques de façon brève, mais aussi complète que possible.

— Caractères de la souche Hitchner B_1.

Lorsque HITCHNER et JOHNSON isolèrent cette souche, ils crurent être en présence du virus de la Bronchite Infectieuse des volailles, en raison de son caractère peu pathogène. Puis ils s'aperçurent de leur erreur. JOHNSON caractérise ainsi la souche Hitchner B_1 :

« Le virus B_1 est une souche de virus de Newcastle ayant une faible virulence pour les poussins de tous âges et ayant le pouvoir de provoquer une immunité substantielle... Il est relativement moins léthal pour l'embryon que les autres souches de la M.N. Les embryons de poussins âgés de dix jours provenant de troupeaux non vaccinés contre la M.N., inoculés dans le sac allantoïdien avec le virus B_1, meurent entre le troisième et le cinquième jour, alors que les autres souches de virus tuent habituellement ce même embryon le deuxième ou le troisième jour qui suit l'inoculation. En outre, HITCHNER montre qu'avec des embryons possédant une immunité passive, la mortalité se répartit sur les onze jours qui suivent l'inoculation et surtout vers le sixième ou le septième jour. Les embryons morts dans ces délais sont rabougris et recourbés comme s'ils avaient été infectés par le virus de la Bronchite Infectieuse. »

Le liquide chorio-allantoïdien de culture (L.C.A.) contient environ $10^9 DL_{50}$ par ml. Il est donc aussi concentré en « doses léthales » au moment de la mort de l'embryon que lorsque la culture est faite avec du virus de Newcastle pleinement virulent, celle-ci titrant en effet 10^9 à $10^{10} DL_{50}$ (P. GORET).

La résistance du virus B_1 est comparable à celle du virus de Newcastle virulent. Dans l'eau pure, le virus résiste 32 h à 30°C; le pH entre 4,4 et 9,2 influe peu sur sa conservation (WINTERFIELD et SEADALE). Ces derniers auteurs préconisent l'emploi d'un stabilisateur qui n'est autre que du lait écrèmé en poudre.

— Propriétés vaccinales de la souche B_1.

JOHNSON écrit : « Les travaux originaux sur la vaccination avec le virus B_1 ont été réalisés par la méthode d'instillation intranasale, qui continue à être la méthode de choix, mis à part le temps requis lorsque l'on doit vacciner un grand nombre d'oiseaux. JOHNSON et GROSS rapportent des expériences dans lesquelles le virus B_1 est administré par atomisation dans les boîtes à poussins ou dans les incubateurs. De cette étude, il résulte que l'on peut avoir des résultats très satisfaisants par la nébulisation, avec un gain de temps et de prix de revient appréciables. Cependant, lorsque l'on utilise cette méthode, la concentration du virus dans le vaccin doit être comprise entre des limites très étroites. Si le vaccin est trop concentré, une sévère réaction, se traduisant par une mortalité importante, peut survenir sur les poussins d'un jour et, si le vaccin n'est pas assez concentré, l'immunité produite est insuffisante... En 1953, des chercheurs montrent que le virus B_1 pouvait être utilisé dans l'eau de boisson avec de bons résultats.

Nous avons durant l'année passée vacciné 60 000 poussins en diluant 1 ml de liquide allantoïdien contenant du virus B_1 dans 1 000 ml d'eau froide pour 100 poussins. Nous n'avons utilisé aucun stabilisateur et les poussins étaient âgés de quatre à huit jours. Nous avons éprouvé quelques poussins et les résultats étaient comparables

avec les résultats obtenus sur les poussins vaccinés par instillation intranasale. »

Après avoir étudié les travaux de divers auteurs, nous avons retenu quatre modes d'administration du vaccin B_1 :

— L'administration par injection intramusculaire.

Cette méthode est efficace, mais assez délicate à réaliser dans la pratique courante sur de jeunes poussins.

— L'administration par badigeonnage oculonasal.

Qui consiste à déposer sur les muqueuses oculaires et nasales, à l'aide d'un pinceau, une goutte de solution vaccinale. Tous ceux qui se sont intéressés à la souche Hitchner B_1 l'utilisent ou l'ont utilisée. Cette méthode est simple et assez rapide, sa valeur est absolue.

— L'administration par aérosol.

Hitchner et Reising, Johnson et Gross tentèrent, en 1951 et en 1952, de vacciner en nébulisant une solution de virus B_1 ou en réalisant un aérosol sec. Cette méthode est efficace si l'aérosol est assez concentré et si la taille des particules est comprise entre 2 et 4 microns. Mais si l'aérosol est trop concentré, Johnson et Gross signalent d'importants accidents post-vaccinaux. Cette méthode fut quelque peu délaissée et les auteurs qui l'ont expérimentée n'ont pas précisé les concentrations nécessaires et suffisantes pour vacciner sans accidents; les expériences qu'ils relatent ont été nombreuses et réalisées sur un grand nombre d'animaux, mais elles semblent avoir été conduites un peu au hasard. Nous en retiendrons les conclusions de Johnson et Gross résultant d'une série d'expériences faites en 1951 :

« La vaccination par nébulisation du vaccin B_1 confère une immunité solide de durée égale à celle consécutive à l'administration du même vaccin par badigeonnage oculo-nasal. »

Ces auteurs ont travaillé sur des poussins de tous âges, de toutes provenances, sans remarquer de différences notables dans les réactions vaccinales des poussins.

— L'administration par « vaccin buvable ».

Cette méthode fut mise au point par LUGINBUHL en 1954. Le vaccin est ajouté à l'eau de boisson en proportion convenable. Le procédé, très élégant, est simple et pratique. De nombreux auteurs l'ont expérimenté avec succès : WINTERFIELD, SEADALE et GOLDMAN; VAN WAVEREN et ZUIDJAM; GORET et AYCARDI; SINHA, CHANG et FRY; PIERRE et bien d'autres.

Toutefois, une étude critique des résultats publiés permet de constater que la méthode n'offre pas le même caractère d'efficacité que les méthodes d'administration par injection intramusculaire ou par badigeonnage oculo-nasal.

Ainsi, DARDIRI, CHANG et FRY vaccinent « per os » des poussins de cinq jours dont 28 % seulement résistent à l'épreuve virulente douze semaines plus tard.

P. GORET relate des expériences où les poussins vaccinés « per os » sont faiblement immunisés et ne résistent pas à une injection intramusculaire de $10^5 DL_{50}$ de virus de Newcastle. Il en conclut qu'il faut vacciner en plusieurs fois et à de fortes doses.

WINTERFIELD, enfin, note 1 à 5 % d'échecs lors de vaccination de poussins de quatre semaines « per os ». D'autre part, les poussins ayant une immunité passive

très forte lors de la vaccination, s'immunisent très mal; il en est de même si les poussins ont moins de deux semaines.

Or, les laboratoires conseillent d'administrer le vaccin B_1 en une seule fois dans l'eau de boisson. Ils assurent que le vaccin est inoffensif quel que soit l'âge et la voie d'introduction.

Mais voyons plutôt les faits même qui nous ont fait douter de la totale efficacité du « vaccin buvable » souche Hitchner B_1.

CHAPITRE DEUXIÈME

EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES

Les travaux dont nous faisons état ci-dessous nous ont permis de dégrossir le vaste problème que constitue l'étude d'un vaccin. Il nous a paru utile de les relater ici car ils permettent de mieux comprendre le sens que nous avons voulu leur donner.

1. *En mai 1958*, un aviculteur, désireux de connaître l'efficacité du vaccin Hitchner B_1 qu'il utilisait pour vacciner les poulets de son élevage, envoie certains de ces derniers au Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse sur les conseils de son vétérinaire. Ces poulets, vaccinés à l'âge de quatre semaines, nous sont envoyés par groupe de six tous les trois jours à partir du jour de leur vaccination. Ils avaient été vaccinés en additionnant le vaccin à l'eau de boisson selon les prescriptions du fabricant. Nous les avons éprouvés par badigeonnage des muqueuses oculaires et nasales au moyen de virus pleinement virulent. Nous avons fait sept épreuves virulentes portant sur 43 poulets.

Tous les animaux que nous avons éprouvés sont morts de Maladie de Newcastle dans le délai de quatre à sept jours. Cet échec de vaccination peut être imputé, soit au vaccin lui-même, soit au mode d'administration.

2. *En juillet 1958*, pour vérifier l'efficacité du vaccin, nous avons réalisé l'expérience suivante dans laquelle nous avons vacciné des poussins âgés de quinze jours avec le vaccin B_1 par différentes voies :

1. « Vaccin buvable »

Nous vaccinons six poussins âgés de quinze jours en diluant 2 ml de suspension vaccinale dans 500 ml d'eau que nous mettons à la disposition des poussins. Cette suspension vaccinale est réalisée en dissolvant une ampoule de vaccin lyophilisé dite de 100 doses vaccinantes dans 5 ml d'eau stérile.

L'épreuve virulente est faite seize jours après la vaccination, par instillation oculo-nasale de virus de Newcastle pleinement virulent.

Résultats :

5 poussins meurent de M.N.;
1 poussin reste vivant.

Le même jour, nous avons vacciné de la même façon 18 poussins du même âge. L'épreuve virulente a lieu vingt jours plus tard par simple contact avec les 5 poussins du lot ci-dessus durant leur maladie.

Résultats :

15 poussins meurent;
3 restent vivants.

2. Vaccination par instillation oculo-nasale

Nous avons dissous une ampoule de vaccin lyophilisé dans 5 ml d'eau physiologique et nous vaccinons sept poussins âgés de quinze jours. Nous réalisons l'épreuve virulente seize jours après la vaccination par instillation oculo-nasale de virus de Newcastle pleinement virulent.

Résultats :

1 poussin meurt en huit jours;
6 poussins restent vivants.

3. Vaccination par voie intramusculaire

Avec le vaccin précédemment préparé, nous vaccinons sept poussins âgés de quinze jours en injectant 1/20 ml dans les muscles pectoraux.

L'épreuve virulente est réalisée seize jours après la vaccination.

Résultats :

Tous les poussins sont vivants quinze jours après l'épreuve virulente.

Nous pouvons déduire de cette expérience les conclusions suivantes :

a) la souche Hitchner B_1 est inoffensive pour les poussins de quinze jours;

b) elle permet une vaccination;

c) le vaccin buvable ne confère l'immunité que de façon très irrégulière. La vaccination par voie

intramusculaire et par voie oculo-nasale procure au contraire une bonne immunité.

Nous décidons de reprendre ces expériences d'une façon plus complète. Nous expérimentons les trois modes de vaccination précités concurremment avec la vaccination par aérosol.

Nous suivrons le plan ci-contre pour relater les différents essais :

I. Titrage du vaccin utilisé.

II. Essais comparatifs des différentes voies d'administration.

III. Durée de l'immunité conférée.

IV. Etude de la vaccination de poussins issus de reproductrices vaccinées.

V. Relation entre l'âge du poussin et ses capacités d'immunisation. Vaccination du poussin d'un jour.

VI. Etude des modalités de la vaccination par aérosol :

1° au laboratoire,

2° dans la pratique.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

TITRAGE DU VACCIN UTILISÉ

Le vaccin dont nous disposons est présenté sous forme lyophilisée dans des ampoules de « 100 doses vaccinantes ».

Le virus de la souche B_1 tue un embryon de dix jours en trois à six jours. Pour titrer notre virus-vaccin, nous recherchons la dilution de vaccin qui tue un embryon sur deux : DL_{50}.

Nous titrons ainsi deux ampoules de vaccin. Nous diluons le contenu lyophilisé de chaque ampoule dans un ml d'eau stérile, puis, à partir de cette solution, nous réalisons les dilutions suivantes :

$$10^{-3},\ 10^{-4},\ 10^{-5},\ 10^{-6},\ 10^{-7},\ 10^{-8}.$$

Nous inoculons deux œufs embryonnés par ampoule et par dilution en injectant dans chaque œuf 1/10 ml.

Nous examinons les œufs cinq jours plus tard en ouvrant d'abord les œufs inoculés avec les dilutions les plus faibles.

Tous les œufs inoculés avec 1/10 ml de la dilution 10^{-3} sont morts;

Tous les œufs inoculés avec 1/10 ml de la dilution 10^{-4} sont morts:

Un des deux embryons inoculés avec 1/10 ml de la dilution 10^{-5} faite à partir de l'ampoule B est mort, l'autre est vivant;

Les deux embryons inoculés avec la dilution 10^{-5} de l'ampoule A sont vivants.

L'ouverture de l'œuf ayant été réalisée par ouverture de la chambre à air, les embryons ne sont pas altérés et, lorsque cet embryon est toujours vivant, nous le replaçons en couveuse.

Le sixième jour, il nous reste donc en couveuse les embryons ci-dessous :

1 embryon inoculé avec la dilution 10^{-5},
4 embryons inoculés avec la dilution 10^{-6},
4 embryons inoculés avec la dilution 10^{-7},
4 embryons inoculés avec la dilution 10^{-8}.

Ces œufs ont éclos normalement.

Le nombre de doses léthales contenues dans l'ampoule A est donc approximativement de $10^5 DL_{50}$.

Le nombre de DL de l'ampoule B est approximativement $10^6 DL_{50}$.

Nous avons vérifié par hémagglutination de globules rouges de poulet que chaque embryon avait bien été tué par le virus de la souche Hitchner B_1 utilisée.

D'autres titrages plus précis furent réalisés quelques mois plus tard en utilisant 4 à 5 embryons pour chaque dilution, soit environ 50 œufs embryonnés pour chaque titrage.

Nous avons dissous et mélangé quatre ampoules de vaccin lyophilisé. Cette solution vaccinale tuait un embryon sur deux à la dilution $10^{-7,7}$ (soit par injection à l'embryon de 1/10 ml de la dilution à $10^{-8,7}$).

Nous avons titré de la même façon du vaccin frais constitué par du liquide chorio-allantoïdien de culture (L.C.A.) congelé. Ce vaccin frais contient $10^{9,6}DL_{50}$ par millilitre.

Trois mois plus tard, le même vaccin titrait $10^{-9,2}DL_{50}$. Il avait été conservé à — 20°C.

CHAPITRE DEUXIÈME

ESSAIS COMPARATIFS DES DIFFÉRENTES VOIES D'ADMINISTRATION

Le vaccin

Nous utilisons un vaccin lyophilisé frais, fabriqué à partir de cultures chorio-allantoïdiennes de virus de pseudo-peste (souche Hitchner B_1). Le contenu de chaque ampoule est dilué dans 5 ml de sérum physiologique et nous mélangeons soigneusement les dilutions de quatre ampoules. Nous obtenons ainsi une suspension vaccinale homogène de 20 ml que nous utilisons immédiatement dans les quatre procédés de vaccination décrits ci-dessous.

1° *La vaccination*

Nous vaccinons 183 poussins âgés de sept jours issus d'un croisement Faverolles × Sussex.

A. *Vaccination par voie intramusculaire.*

Nous vaccinons 40 poussins par injection intramusculaire de 1/20 ml de la solution préparée à chacun d'eux. L'injection est faite dans les muscles pectoraux.

B. *Vaccination par aérosol.*

Nous vaccinons 40 poussins par nébulisation, à l'aide de l'appareil à aérosol de Jouan, colonne O.R.L., de 2,4 ml du vaccin préparé; pendant dix minutes, les poussins respirent cet aérosol. Les poussins étaient placés, pour réaliser cette vaccination, dans une cage grillagée de 80 × 60 × 40 cm recouverte de linges; la colonne de nébulisation étant dirigée vers l'intérieur de la cage. Nous plaçons ensuite ces poussins dans une éleveuse avec cinq poussins témoins.

C. *Vaccination par voie oculo-nasale.*

Nous vaccinons 40 poussins par badigeonnage des muqueuses de l'œil et de la narine gauche avec la même solution vaccinale. Ces poussins sont mis sous la même éleveuse que les poussins vaccinés par voie intramusculaire. Nous leur joignons quinze témoins.

D. *Vaccination par vaccin « buvable ».*

Ce mode de vaccination est actuellement préconisé en France. En buvant, les poussins s'imprègnent les muqueuses nasales et se vaccinent donc par voie respiratoire. Le contenu d'une ampoule de vaccin est dit suffisant pour vacciner 100 poussins; pour plus de sécurité, nous vaccinons 43 poussins avec cette même dose, soit 5 ml de la solution précédemment préparée. Ces 5 ml sont dilués dans un litre d'eau mis en deux fois, dans les 24 heures, à la disposition des poussins. Ces derniers étaient à la diète depuis la veille au soir. Lorsque le « vaccin buvable » fut mis à leur disposition, ils étaient

assoiffés. Nous utilisons de l'eau de conduite; l'abreuvoir est neuf.

Le reste du vaccin ainsi préparé est cultivé sur des œufs embryonnés de dix jours de façon à vérifier la pureté et la vitalité de la souche Hitchner B_1 utilisée.

2° *Epreuve virulente*

Nous éprouvons chaque fois cinq poussins de chaque lot. Les épreuves sont faites les 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 17^e jours suivant la vaccination. Cette épreuve est réalisée par badigeonnage oculo-nasal. Le virus de Newcastle virulent est préparé par dilution de 0,5 ml de liquide chorio-allantoïdien de culture (recueilli trois semaines auparavant et conservé à une température de — 20°C) dans 4,5 ml d'eau. Nous badigeonnons au pinceau l'œil et la narine gauches.

Les poussins inoculés sont placés dans des éleveuses situées dans une autre pièce que celle où ils ont été élevés après vaccination.

3° *Résultats*

A. *Immunité du lot vacciné par voie intramusculaire :*

— Le 1er jour après la vaccination, nous éprouvons 5 poussins; tous meurent le 4^e ou le 5^e jour qui suit l'épreuve virulente.

— Le 2^e jour, nous éprouvons 5 poussins : tous meurent le 4^e ou le 5^e jour qui suit l'épreuve virulente.

— Le 3^e jour, nous éprouvons 5 poussins :

2 meurent dans les 4 jours qui suivent l'épreuve virulente;

2 présentent après 8 jours environ des troubles nerveux avec torticolis; l'un meurt en 13 jours, l'autre reste vivant;

1 poussin reste normal; nous le sacrifierons 17 jours plus tard.

— Les 4e, 5e, 7e, 9e et 17e jours, nous éprouvons 5 poussins qui ne présentent aucun trouble et restent en excellente santé jusqu'à leur sacrification, 17 jours après la dernière épreuve virulente.

Tous les poussins ont été autopsiés. Les poussins morts présentaient tous des lésions de pseudo-peste avec, par ordre de fréquence :

— lésions hémorragiques au ventricule succenturié,

— fines pétéchies au cloaque,

— pétéchies en piqûre de puce aux sillons cardiaques,

— taches hémorragiques de 1 à 2 mm de diamètre disséminées sur toute la longueur du tube digestif.

Les poussins sacrifiés ne présentent aucune de ces lésions.

L'immunité débute donc dès le 3e jour et est totale le 4e jour qui suit la vaccination intramusculaire.

B. *Immunité du lot vacciné par aérosol :*

— Les poussins éprouvés les 2 jours qui suivent la vaccination par aérosol sont morts le 4e et le 5e jour après l'épreuve virulente.

— Le 3e jour, 5 poussins sont éprouvés : 4 meurent en 5 jours. Le 5e reste normal et ne présente aucun trouble.

— Le 4e jour, nous éprouvons 5 poussins :

2 meurent en 4 et 5 jours;

2 restent normaux et ne présentent aucun trouble;

1 présente des signes nerveux avec torticolis une semaine après l'épreuve virulente et meurt en 14 jours.

— Les 5e, 7e, 9e, 17e jours suivant la vaccination, aucun des poussins éprouvés ne présente le moindre trouble.

Tous les poussins morts présentent une ou plusieurs lésions de M.N. à l'autopsie. Les poussins immunisés qui ont résisté sont sacrifiés au 17e jour et ne présentent aucune lésion.

Les poussins vaccinés par aérosol voient leur immunité se développer le 3e et le 4e jour suivant la vaccination, pour être totale le 5e jour.

C. *Immunité du lot vacciné par voie oculo-nasale :*

— Les poussins éprouvés les 2 premiers jours suivant la vaccination sont tous morts en 4 jours.

— Le 3e jour, 4 poussins meurent en 5 jours; le 5e poussin ne présente aucun trouble.

— Le 4e jour, 4 poussins meurent en 4 ou 5 jours après l'épreuve virulente. Un poussin meurt 13 jours après cette épreuve dans un coma précédé de troubles nerveux.

— Le 5e jour, 3 poussins meurent 5 jours après l'épreuve virulente, un autre meurt en 13 jours à la suite de troubles nerveux avec torticolis. Le 5e poussin reste normal.

— Le 6e jour et les jours suivants, tous les poussins éprouvés restent sains et ne présentent aucun trouble.

Tous les poussins morts présentent des lésions de M.N.

Les poussins immunisés sont sacrifiés le 17e jour après l'épreuve virulente et ne présentent aucune lésion apparente à l'autopsie.

Par voie oculo-nasale, l'immunité débute donc vers le 4e jour qui suit la vaccination et est totale et solide le 6e jour.

D. *Immunité du lot vacciné « per os » :*

— Tous les poussins éprouvés dans les 3 jours qui suivent la vaccination sont morts dans le délai habituel de 4 à 5 jours.

— Le 4e jour après la vaccination, 5 poussins sont éprouvés; 4 meurent en 4 jours, le survivant présente à partir du 14e jour des troubles nerveux qui vont en s'aggravant. Ce poussin est sacrifié le 17e jour et présente à l'autopsie des lésions discrètes de M.N.

— 4 des poussins éprouvés le 5e jour après la vaccination meurent; le survivant ne présente aucun trouble.

— Tous les poussins éprouvés 7 jours après la vaccination meurent en 4 à 6 jours.

— Des poussins éprouvés le 9e jour après la vaccination, 4 meurent en 5 jours, le survivant présente des troubles nerveux discrets quelques jours plus tard.

— Le 17e jour suivant la vaccination, nous éprouvons 8 poussins: 2 meurent en 4 jours, 2 meurent en 5 jours. 1 en 7 jours; il reste 3 poussins qui ne présentent aucun trouble.

Au 17e jour suivant la vaccination, nous n'avions donc que 3 poussins immunisés sur 8 vaccinés.

En cours d'expérience, nous avons eu des immunités partielles au 4e jour et une immunité totale au 5e jour, mais la plupart des poussins ne furent nullement immunisés par ce mode de vaccination. Ceci est probablement dû au fait que la muqueuse nasale n'est pas ou est trop peu humectée par l'eau de boisson vaccinale lors de l'abreuvement du poussin.

E. *Devenir des témoins :*

Au 17e jour, nous avons éprouvé les témoins que nous avions répartis sous les éleveuses lors de la vaccination de la manière suivante :

— 15 témoins sont placés avec les poussins vaccinés par voie intramusculaire et par voie oculo-nasale immédiatement après la vaccination;

— 5 témoins sont placés avec les poussins vaccinés par aérosol;

— nous ne plaçons aucun témoin avec les poussins vaccinés par vaccin buvable.

Dans le premier lot :

2 poussins meurent le 4e jour qui suit l'épreuve virulente; 4 le 5e jour, 4 le 6e jour, 2 le 7e jour, 1 le 8e jour. Le 13e jour, il reste 2 survivants, dont l'un, très anémié, se trouve dans un état comateux et l'autre présente des troubles nerveux. Ils sont sacrifiés et montrent tous deux des lésions de M.N. discrètes.

Dans le deuxième lot :

1 témoin meurt le 5e jour qui suit l'épreuve virulente, 2 meurent le 6e jour et 2 le 7e jour.

Tous ces témoins ont été pendant 17 jours au contact des poussins vaccinés avant l'épreuve virulente. Il n'y a donc pas eu d'immunisation par contact dans ce délai.

En cours d'expérience, nous n'avons eu aucun cas de mortalité qui puisse être attribué à une maladie intercurrente.

Conclusions

— La vaccination par voie intramusculaire immunise en 3 à 4 jours;

— La vaccination par aérosol immunise en 5 jours;

— La vaccination par instillation oculo-nasale immunise en 6 jours;

— La vaccination par « vaccin buvable » immunise peu et nous a donné des résultats très insuffisants alors que nous avions rigoureusement suivi les instructions du laboratoire qui nous avait fourni le vaccin;

— Il n'y a pas eu immunisation par contact des témoins avec les vaccinés dans le délai de 17 jours.

Les résultats de cette expérience sont consignés et résumés sur le tableau ci-contre.

Temps écoulé avant l'épreuve virulente / mode de Vaccination	1 jour après la Vaccination	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	7 jours	9 jours	17 jours
Voie Intra-musculaire	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 1 en 3 jours, 2 en 4 jours, 1 en 5 jours, 1 en 6 jours Survivants: 0	morts: 1 en 3 jours, 1 en 4 jours, 1 en 13 jours, 1 malade (tué) Survivants: 1/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5
Aérosol	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 4 en 5 jours Survivants: 1/5	morts: 1 en 4 jours, 1 en 5 jours, 1 en 14 jours Survivants: 2/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5
Voie oculo-nasale	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 5 en 4 jours Survivants: 0	morts: 1 en 4 jours, 3 en 5 jours Survivants: 1/5	morts: 3 en 4 jours, 1 en 5 jours, 1 en 13 jours Survivants: 0	morts: 3 en 5 jours, 1 en 13 jours Survivants: 1/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5	morts: 0 Survivants: 5/5
Vaccin buvable	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 1 en 3 jours, 3 en 4 jours, 1 en 6 jours Survivants: 0	morts: 4 en 4 jours, 1 en 5 jours Survivants: 0	morts: 2 en 4 jours, 1 en 5 jours, 1 en 6 jours, 1 en 16 jours Survivants: 0	morts: 2 en 4 jours, 1 en 5 jours, 1 en 6 jours Survivants: 1/5	morts: 1 en 4 jours, 3 en 5 jours, 1 en 6 jours Survivants: 0	morts: 1 en 4 jours, 3 en 5 jours Survivants: 1/5	morts: (une 8 poussine) 2 en 4 jours, 2 en 5 jours, 1 en 7 jours Survivants: 3/8

CHAPITRE TROISIÈME

DURÉE DE L'IMMUNITÉ CONFÉRÉE PAR L'ADMINISTRATION DU VACCIN EN AÉROSOL

Les différents auteurs auxquels nous nous sommes référés donnaient des valeurs assez variables à la durée de l'immunité conférée par l'administration du virus-vaccin Hitchner B_1. Certains parlaient d'une immunité de six semaines, d'autres de vingt semaines.

Il nous a paru nécessaire de préciser ces chiffres et nous avons réalisé l'expérience suivante :

Nous avons acheté chez un éleveur dont l'élevage a toujours été indemne de M.N. et dont les reproductrices n'ont jamais été vaccinées contre cette affection, 100 poussins d'un jour issus d'un croisement Sussex $\times$ Rhode $\times$ Wyandotte.

Nous avons vacciné ces poussins à l'âge de sept jours, puis nous les avons élevés dans un autre élevage avicole sous notre propre surveillance, dans le but de nous rapprocher le plus possible des conditions normales

d'utilisation du vaccin. Ces poulets nous furent expédiés à l'Ecole Vétérinaire où nous avons réalisé l'épreuve virulente.

1° *La vaccination*

Nous plaçons les poussins dans une caisse fermée mesurant environ 100 × 60 × 40 cm. Nous nébulisons le vaccin pendant trois minutes et nous laissons les poussins dans la caisse encore trois minutes après la fin de la nébulisation. La solution vaccinale est faite de la même façon que dans l'expérience précédente : nous avons dilué quatre ampoules de vaccin dans 20 ml d'eau physiologique.

2° *Etude de l'immunité conférée*

Nous admettons à priori, à la lueur des publications déjà faites à ce sujet, que la durée de cette immunité sera égale ou supérieure à deux mois et inférieure à quatre mois et demi.

A. Première épreuve virulente

Deux mois après la vaccination, nous éprouvons dix-huit poulets âgés de dix semaines par instillation oculo-nasale de virus de Newcastle virulent provenant de liquide chorio-allantoïdien de culture dilué à 10 %. En même temps, nous prélevons du sang par ponction de la veine alaire à six de ces poulets dans le but de titrer les anticorps de ces poulets par une inhibition de l'hémagglutination (IHA).

Résultats :

a) *IHA rapide.*

Mise au point récemment par le Professeur P. Saurat, cette méthode présente le grand avantage de donner des résultats très rapides et suffisamment précis.

Avec le sérum de chacun des prélèvements précédemment effectués et avec le mélange de ces sérums, nous réalisons les dilutions suivantes dans du sérum physiologique : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64.

Sur une lame, nous mettons une goutte de sérum par dilution ; nous y ajoutons une goutte de virus de Newcastle dilué à 1/6. Nous mélangeons pendant une à deux minutes, puis nous ajoutons une goutte d'une solution de globules rouges de poulet préalablement lavés et convenablement dilués. Pour chaque dilution, nous mélangeons ces trois gouttes pendant une minute et demi et nous lisons la réaction.

Sur une même lame de verre, nous avons trois types de réaction suivant les dilutions :

— le mélange reste homogène et il y a inhibition de l'hémagglutination ;

— le mélange agglutine très faiblement et il y a inhibition incomplète de l'hémagglutination. C'est la dilution présentant cette réaction que nous utilisons pour déterminer le pouvoir d'hémagglutination (p IHA) du sérum ;

— le mélange agglutine fortement et il n'y a pas inhibition de l'hémagglutination. Dans ce cas, il se forme à la périphérie de la tache résultant du mélange de nos trois gouttes une margination due au dépôt des agglutinats de globules rouges. On obtient la même réaction en remplaçant le sérum à éprouver par du sérum physiologique (réaction témoin).

Sur les six prélèvements, nous avons les résultats suivants :

sang n° 1 : inhibition avec le sérum dilué à 1/8,
sang n° 2 : inhibition avec le sérum dilué à 1/16,
sang n° 3 et n° 4 : *idem*,
sang n° 5 : inhibition avec le sérum dilué à 1/32,
sang n° 6 : inhibition avec le sérum dilué à 1/64,
. . . . . .
mélange du sérum des six sangs : inhibition à la dilution 1/16.

Pour simplifier l'exposé des résultats obtenus, nous parlerons désormais de pouvoir d'inhibition de l'hémagglutination : p IHA.

Ce p IHA est égal à l'inverse de la dilution nécessaire pour inhiber l'hémagglutination. Ainsi, dans le cas présent, le pouvoir d'inhibition du mélange à parties égales du sérum des six sangs recueillis est de 16 et nous avons : p IHA = 16.

Plus ce p IHA est élevé et plus l'immunité est solide. Nous considérons, à la lueur des travaux du Professeur P. Saurat, que l'immunité d'un poulet est solide lorsque son sérum inhibe l'hémagglutination à une dilution égale ou supérieure à 1/4, donc lorsque le p IHA de son sérum est égal ou supérieur à 4.

b) *Epreuve virulente.*

Les poulets furent sacrifiés quinze jours après l'épreuve virulente. Ils n'ont jamais présenté le moindre trouble.

En les sacrifiant, nous avons à nouveau prélevé du sang sur ces poulets et à l'IHA rapide, nous avons obtenu les résultats suivants :

p IHA sang n° 1 : 120	p IHA sang n° 4 : 180
p IHA sang n° 2 : 120	p IHA sang n° 5 : 240
p IHA sang n° 3 : 120	p IHA sang n° 6 : 240

. . . . . .

p IHA mélange : 120

Après l'épreuve virulente, il y a eu une augmentation considérable du taux des anticorps et donc du pouvoir d'inhibition de l'hémagglutination.

B. Deuxième épreuve virulente

Trois semaines plus tard, nous éprouvons vingt poulets qui sont alors âgés de treize semaines et ont été vaccinés depuis douze semaines. Avant l'épreuve virulente, nous prélevons du sang sur six d'entre eux pour réaliser une IHA.

Résultats :

a) *IHA rapide.*

La réaction est faite sur un mélange du sérum des six prélèvements et donne le résultat suivant :

p IHA = 8.

Le virus utilisé étant dilué au 1/6. En effectuant une inhibition lente selon la méthode classique avec un virus dilué à 1/80, l'inhibition s'est faite à la dilution de 1/80.

Les résultats des deux méthodes, lente et rapide, concordent donc.

b) *Epreuve virulente.*

L'épreuve virulente proprement dite est réalisée de la même façon que précédemment.

L'un des poulets meurt quelques jours après l'épreuve virulente. Ce poulet ne présente aucun signe de M.N., mais est très anémié. Comme il s'agit d'un des poulets sur lesquels nous avons fait une prise de sang, nous attribuons sa mort à une perte de sang trop importante.

Aucun des autres poulets ne présente le moindre malaise et tous sont sacrifiés quinze jours après l'épreuve virulente. A ce moment, le mélange des sérums des prélèvements de sang a un p IHA compris entre 64 et 128, soit approximativement p IHA = 100.

Le même sérum à l'IHA lente donne p IHA (lente) = 1 000. Donc, l'immunité est solide douze semaines après la vaccination.

C. Troisième épreuve virulente

Trois semaines plus tard, nous éprouvons un autre lot de vingt poulets qui sont à ce moment-là âgés de seize semaines et ont été vaccinés depuis quinze semaines.

Nous procédons de la même façon que précédemment et nous obtenons les résultats suivants :

p IHA (mélange de six sangs) = 8.

Dans les jours qui suivent l'épreuve virulente, l'un des poulets éprouvés présente quelques signes nerveux de la tête et du cou, sans toutefois que son état général en soit affecté. Les autres poulets éprouvés restent normaux et sont sacrifiés quinze jours plus tard.

Entre temps, cinq poulets âgés de sept semaines, élevés dans une cage voisine de celle où se trouvaient les poulets éprouvés, présentent des signes de Maladie de Newcastle alors qu'ils n'avaient pas été soumis à l'épreuve virulente.

Ils meurent en deux à trois jours et présentent à l'autopsie des lésions caractéristiques de M.N.

Ces poulets n'avaient pas été vaccinés contre la M.N.

Les poulets éprouvés ont donc fait une maladie inapparente et ont excrété du virus qui a contaminé leurs voisins.

D. Quatrième épreuve virulente

Trois semaines plus tard, nous éprouvons un dernier lot de dix-neuf poulets qui sont alors âgés de dix-neuf semaines et ont été vaccinés dix-huit semaines auparavant.

Nous prélevons du sang sur six poulets et nous faisons une réaction d'IHA rapide sur le mélange des six sérums. Le pouvoir d'inhibition de ce mélange est: p IHA = 4.

L'épreuve virulente est réalisée selon le processus suivant :

— Quatre poulets sont éprouvés par inoculation intramusculaire de 1 ml de virus dilué à 10^{-2} pour les poulets n° 1 et n° 2, et à 10^{-4} pour les poulets n° 3 et n° 4.

— Les autres poulets sont éprouvés suivant la technique habituelle d'instillation oculo-nasale d'une solution de virus à 1/10.

Nous mettons avec ces poulets deux témoins non vaccinés, de même race et âgés de quinze semaines. Ces témoins ne subissent pas l'épreuve virulente.

Huit jours après l'épreuve virulente, aucun des poulets éprouvés ne présente le moindre malaise; par contre, les deux témoins se mettent en boule. L'un d'eux émet une diarrhée verdâtre et a de grandes difficultés respiratoires.

Le lendemain, ces deux témoins présentent des signes respiratoires et digestifs. Le surlendemain, ils meurent et présentent à l'autopsie des lésions de M.N. Les sujets vaccinés et éprouvés ont donc fait une maladie inapparente et contaminé les deux témoins. Ils n'ont néanmoins présenté aucun trouble, même lorsqu'ils ont été éprouvés par des voies aussi sévères que l'injection intramusculaire de doses que l'on peut estimer à 100 000 et 10 000 000 doses minima mortelles (D.M.M.).

Conclusions

L'immunité consécutive à la vaccination du poussin de sept jours par le virus B_1 administré en aérosol est donc solide pendant plus de dix-huit semaines.

CHAPITRE QUATRIÈME

ÉTUDE DE L'IMMUNISATION DE POUSSINS ISSUS DE REPRODUCTRICES VACCINÉES CONTRE LA MALADIE DE NEWCASTLE

On admet généralement que les poussins issus de poules vaccinées ne peuvent développer une immunité vaccinale que si la vaccination est faite lorsque le poussin est âgé de plus de trois semaines. Pour le vérifier, nous réalisons l'expérience suivante :

Nous vaccinons 89 poussins de race Sussex dans des conditions identiques aux précédentes. Ces poussins sont issus de poules vaccinées contre la M.N. (vaccination avec la souche Hitchner B_1 à l'âge de trois semaines par badigeonnage oculo-nasal et vaccination de rappel à l'âge de six mois par injection intramusculaire de vaccin Hitchner B_1; les poules étant âgées de neuf mois au moment de notre expérience). Nous avons titré les anticorps du sérum de ces reproductrices : son pouvoir d'inhibition de l'hémagglutination (p IHA) est compris entre 8 et 16.

Ces poussins sont vaccinés par aérosol à l'âge de sept jours. L'aérosol est réalisé par nébulisation dans la cage utilisée précédemment de 3 ml d'une solution de deux ampoules de vaccin lyophilisé dans 10 ml d'eau. Nous

vaccinons 69 poussins et nous gardons 20 témoins non vaccinés.

Première épreuve virulente

Sept jours après la vaccination, nous éprouvons 29 poussins vaccinés et 10 témoins par instillation oculo-nasale de liquide chorio-allantoïdien de culture virulent dilué à 1/10.

23 sur 29 poussins vaccinés meurent dans les 15 jours qui suivent,

9 des 10 témoins éprouvés meurent dans le même délai.

Deuxième épreuve virulente

Dix-sept jours après la vaccination, nous éprouvons 30 poussins vaccinés et 10 témoins. Dans les jours qui suivent, nous comptons 18 morts parmi les poussins vaccinés et 9 morts parmi les témoins.

Les dix poussins vaccinés non encore éprouvés contractent la M.N. du fait de leur voisinage avec les lots éprouvés précédemment vers le vingtième jour qui suit leur vaccination : cinq de ces poussins meurent.

Tous ces poussins sont morts après une M.N. clinique et présentent à l'autopsie des lésions caractéristiques.

Cette expérience se solde donc par un échec à peu près total, le pourcentage de poussins ayant résisté à l'épreuve virulente étant inférieur à 50 %.

Est-ce que ces poussins ne peuvent effectivement être vaccinés utilement que lorsque leur immunité parentale s'est atténuée; est-ce que la dose de vaccin utilisée est insuffisante ? Pour le savoir, nous réalisons les expériences relatées ci-après qui nous incitent à penser que cette deuxième hypothèse correspond à la réalité.

CHAPITRE CINQUIÈME

RELATIONS ENTRE L'AGE DU POUSSIN ET SES CAPACITÉS D'IMMUNISATION.

Nous allons étudier tout d'abord les possibilités de vaccination du poussin d'un jour par aérosol, par voie intramusculaire et par voie oculo-nasale; puis nous étudierons l'influence de l'âge sur l'immunisation des poussins.

A. Vaccination du poussin d'un jour par aérosol

Nous mettons en incubation le même jour :

— 30 œufs de poules non immunisées (œufs A), race New Hampshire;

— 21 œufs de poules ayant été vaccinées avec le virus B_1 depuis plus de quatre mois (œufs B), race Sussex;

— 18 œufs de poules ayant résisté à l'épreuve virulente post-vaccinale lors de l'étude de la durée de l'immunité (œufs C), race Sussex.

L'éclosion est très mauvaise et nous n'obtenons que 32 poussins, répartis comme suit :

14 poussins A, 7 poussins B, 11 poussins C.

Ces poussins sont vaccinés dans un même éclosoir et donc dans les mêmes conditions avant d'être retirés pour être placés sous l'éleveuse. La vaccination est faite par nébulisation d'une solution vaccinale identique aux solutions vaccinales précédemment utilisées et avec le même appareil. Le temps de nébulisation est de dix minutes environ.

Avec cette même solution vaccinale, nous inoculons sept œufs embryonnés de dix jours pour vérifier la virulence de la souche Hitchner B_1 utilisée. Ces embryons sont tous morts dans les dix jours qui suivent.

Epreuve virulente

L'épreuve virulente est réalisée treize jours après la vaccination. Un poussin A étant mort, nous éprouvons 31 poussins. L'infection se fait par badigeonnage oculo-nasal avec une solution au 1/10 de LCA de culture de virus de Newcastle.

Résultats :

— poussins A :

13 poussins sont éprouvés. Dans les 15 jours qui suivent, 8 poussins meurent. Les 5 survivants ne présentent aucun trouble;

— poussins B :

7 poussins sont éprouvés; 3 d'entre eux survivent, les autres meurent;

— poussins C :

11 poussins sont éprouvés, dont 3 succombent.

Certains poussins ne présentant pas de lésions de M.N. à l'autopsie, nous inoculons des broyats de ces poussins à des œufs embryonnés de dix jours. Ces embryons meurent en deux à trois jours et présentent des lésions hémorragiques caractéristiques. Le LCA produit une hémagglutination spécifique.

Tous les poussins morts à la suite de l'épreuve virulente sont donc bien morts de M.N.

Les poussins issus de poules solidement immunisées ont développé une immunité apparemment comparable à celle développée par les poussins issus de poules non vaccinées. Nous en concluons que le poussin d'un jour peut s'immuniser, mais encore convient-il de préciser dans quelle mesure il peut le faire et sous quelles conditions. Afin de voir notamment si la dose de vaccin reçue par le poussin influe, nous vaccinons des poussins d'un jour par voie intramusculaire et d'autres par voie oculo-nasale.

B. Vaccination du poussin d'un jour par voies intramusculaire et oculo-nasale

Nous vaccinons des poussins issus de poules fortement immunisées (poules C de l'expérience précédente).

— 6 poussins sont vaccinés par injection intramusculaire de 1/20 ml de la solution réalisée par dilution d'une ampoule (dite de 100 doses) de vaccin lyophilisé dans 2 ml d'eau physiologique;

— 6 poussins sont vaccinés par badigeonnage oculo-nasal avec cette même solution vaccinale.

Le lendemain du jour de la vaccination, un des poussins vaccinés par voie intramusculaire meurt. Il ne présente aucune lésion à l'autopsie et l'inoculation d'œufs embryonnés avec des extraits de ce poussin ne donne aucun résultat.

Les troisième et quatrième jours suivant la vaccination, nous notons quelques éternuements qui s'atténuent très rapidement.

L'épreuve virulente a lieu douze jours après la vaccination selon la méthode habituelle. Dans les jours qui suivent, aucun des poussins éprouvés ne présente le moindre trouble.

Nous pouvons donc en conclure que le poussin d'un jour, issu de poule fortement immunisée, est capable de développer une immunité solide si la dose de vaccin utilisée est suffisante.

C. Relations entre l'age du poussin, son immunité naturelle et ses capacités d'immunisation

N'ayant pu déterminer avec précision les conditions d'immunisation du poussin d'un jour par aérosol, nous préparons l'expérience ci-après avec :

— d'une part, 100 poussins (lot A) de race New Hampshire issus de mères non vaccinées contre la Maladie de Newcastle, que nous plaçons sous une même éleveuse n° 1;

— d'autre part, 100 poussins (lot B) de races diverses:

a) 50 coquelets Rhode Island Red,
b) 20 coquelets Leghorn × Rhode Island,
c) 30 poussins d'un croisement chair.

Ces poussins du lot B sont nés de poules vaccinées trois mois auparavant par injection intramusculaire de virus B_1; ils sont placés sous une même éleveuse n° 2.

1° *Technique opératoire*

Nous vaccinerons les poussins par série de quinze dans chaque lot en même temps, soit trente poussins à chaque séance. Nous plaçons les poussins dans une caisse étanche métallique de 144 litres de contenance. L'aérosol fabriqué par la colonne Jouan, que nous utilisons depuis le début de nos expériences, parvient directement dans cette caisse. Une contr'ouverture est faite dans une paroi pour éviter toute surpression. L'intérieur est chauffé. Les poussins sont placés dans la caisse étanche pendant dix minutes; l'appareil à aérosol étant mis en marche dès que les poussins sont enfermés et arrêté lorsque les dix minutes sont écoulées. Les poussins sont alors replacés sous leurs éleveuses respectives.

a) *Le vaccin.*

Nous utilisons du liquide chorio-allantoïdien de culture de virus B_1, dédoublé au moment de l'emploi. Ce vaccin, préparé au laboratoire un mois auparavant, est conservé à une température de — 20°C en tubes de 2,5 ml. Un titrage de ce vaccin réalisé sur plus de 40 œufs embryonnés de dix jours montre que chaque centimètre cube

renferme $10^{9,6}DL_{50}$. L'appareil nébulise 2,4 ml de solution vaccinale en dix minutes, ce qui équivaut à 1 ml de LCA pur ou à $10^{10}DL_{50}$ pour l'embryon.

Les poussins A sont un jour plus jeunes que les poussins B.

b) *Les vaccinations.*

Pour simplifier l'exposé, nous mettrons en indice de la lettre désignant le lot auquel appartient le poussin vacciné, son âge au moment de la vaccination.

Première vaccination.

Les poussins A_1 ont un jour, les poussins B_2 deux jours. Nous vaccinons 15 poussins A_1 et 15 poussins B_2, que nous replaçons aussitôt sous leurs éleveuses respectives, donc au contact de leurs congénères.

Deuxième vaccination.

Le lendemain, 15 poussins A_2 et 15 poussins B_3 sont vaccinés de la même façon.

Troisième vaccination.

Elle intéresse 15 A_3 et 15 B_4.

Quatrième vaccination.

Les poussins ont respectivement quatre et cinq jours. Sont vaccinés 15 A_4 et 15 B_5.

Cinquième vaccination.

Les poussins ont six et sept jours, et nous vaccinons 15 A_5 et 15 B_6.

âge à la vaccination / âge à la mort	non VACCINES	I jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	7 jours
7 jours	A_o^7	A_I^7	A_2^7	2 A_3^7		A_5^7	
8 jours	A_o^8		A_2^8 B_2^8	A_3^8			
9 jours			A_2^9	A_3^9	B_4^9		
I0 jours		2 A_I^{I0}		B_3^{I0}			
II jours	A_o^{II} B_o^{II}	2 A_I^{II}					
I2 jours	B_o^{I2}				A_4^{I2}		
I3 jours	B_o^{I3}						2 B_7^{I3}
I4 jours						B_5^{I4}	

Mortalité post-vaccinale.

Tous les poussins d'une même colonne verticale ont été vaccinés le même jour; tous les poussins d'une même colonne horizontale sont morts le même jour.

2° *Les accidents post-vaccinaux*

Nous avons donc vacciné en tout 75 poussins de chaque lot et nous avons gardé 25 témoins A_0 et 25 témoins B_0.

Cinq jours après la première séance de vaccination, nous remarquons que de nombreux poussins présentent une grande gêne respiratoire (attitude asphyxique), surtout ceux du lot A. Le lendemain, ces signes s'aggravent et quelques poussins meurent. Cette mortalité se poursuit pendant plusieurs jours. Nous avons résumé ces accidents sur le tableau ci-contre où figurent tous les poussins morts des suites de la vaccination. Nous avons porté en exposant sur la lettre désignant chaque poussin, l'âge de ce poussin au moment de sa mort. Ainsi, le poussin A_2^7 est un poussin vacciné à l'âge de 2 jours et mort à l'âge de 7 jours. La différence entre l'indice et l'exposant nous donne le nombre de jours qui ont séparé la vaccination de la mort.

A l'autopsie, tous les poussins A présentent une inflammation des voies respiratoires avec réaction exsudative et accumulation de mucus réalisant une véritable obstruction des bronches. Un seul des poussins B présente cette « trachéo-bronchite asphyxiante »: c'est le poussin B_2^8 qui est un poussin de croisement chair. Par contre, tous les autres poussins B morts sont des Rhodes-Islands (souche améliorée), et cinq d'entre eux présentent des lésions de pullorose à partir desquelles nous faisons des cultures sur gélose et sur bouillon qui se révèlent positives.

3° *Epreuve virulente*

Nous éprouvons tous les survivants dix jours après la dernière vaccination. L'épreuve virulente est faite par

badigeonnage oculo-nasal avec une solution à 1/10 de LCA de culture de virus de Newcastle conservé à — 20°C depuis deux mois environ. Les poussins sont âgés de dix-sept jours.

Résultats :

Lot A :

— 1 poussin A_4 meurt trois jours après l'épreuve virulente. Il ne présente aucune lésion de M.N. à l'autopsie ;

— 1 poussin A_6 meurt le cinquième jour. Il ne présente aucune lésion, mais une culture sur cinq œufs embryonnés de dix jours à partir de broyats des centres nerveux montre que ce poussin est bien mort de M.N. ;

— 1 poussin A_6 meurt le septième jour et présente des lésions de M.N. à l'autopsie.

Dans ce lot A issu de poules non vaccinées contre la M.N., deux témoins seulement ont succombé à l'épreuve virulente ; les autres poussins ont été solidement immunisés.

Lot B :

— 2 poussins B_7 meurent dans les trois jours qui suivent l'épreuve virulente et présentent des lésions de pullorose très nettes à l'autopsie ;

— 1 témoin B_6 meurt le sixième jour de M.N.

Tous les poussins de ce lot issus de poules vaccinées se sont donc immunisés, un seul des témoins a succombé à l'épreuve virulente.

N. B. — Durant cette expérience, nous avons éprouvé la virulence de notre virus de Newcastle. Nous avons contaminé par voie oculo-nasale dix poussins non vaccinés et n'ayant jamais été en contact avec des poussins vaccinés. Tous ces poussins sont morts en trois à quatre jours de Maladie de Newcastle.

4° *Discussion des accidents post-vaccinaux*

Les troubles respiratoires consécutifs à la vaccination ont affecté l'ensemble des poussins six jours après la vaccination du premier groupe de poussins. Or, nous n'avions vacciné que quinze poussins dans chaque lot A et B, les autres ayant été vaccinés les deuxième, troisième et cinquième jours.

Tous les poussins ou presque tous, y compris les témoins, se sont donc vaccinés le premier jour de l'expérience par contact (probablement par inhalation des particules du vaccin nébulisé retenus par le duvet des quinze poussins A_1 et B_2).

Comment expliquer ces accidents post-vaccinaux que nous n'avions encore jamais rencontrés ?

a) *La dose trop forte ?*

Nous ne pensons pas que ces accidents soient dus à un aérosol trop concentré, car les témoins qui se sont vaccinés par contact ont montré la même sensibilité alors qu'ils n'ont pu absorber qu'une quantité minime de vaccin.

b) *Une sensibilité particulière de la race New-Hampshire dans le lot A ?*

Cette éventualité est possible, mais nous avons déjà vacciné quelques poussins de la même souche à l'éclosion sans noter de troubles.

c) *Le trop jeune âge ?*

En effet, le lot B, d'un jour plus âgé, a peu souffert. Nous pensons que cela peut être aussi dû au fait que ce lot bénéficiait d'une certaine protection maternelle.

Les deux expériences que nous rapportons plus loin nous permettront dans une certaine mesure de choisir entre ces hypothèses.

Conclusions de ces expériences

1. La vaccination par le virus B_1 en aérosol n'est pas toujours inoffensive sur des poussins d'un jour.

2. Le virus vaccinal s'est transmis aux poussins témoins, vraisemblablement dans les minutes qui ont suivi la vaccination par aérosol. Notons que les poussins étaient placés par lots de 100 sous des éleveuses de dimensions restreintes : environ 2 m^2.

3. L'immunité obtenue est très solide, aussi bien sur les poussins vaccinés à un jour que sur les poussins immunisés par contact, ce qui confirme que l'immunisation avec le virus B_1 semble suivre la loi du tout ou rien.

4. Les poussins du lot B, issus de mères vaccinées, se sont immunisés de la même façon que les poussins qui n'avaient aucune immunité parentale. En effet, si les poussins B n'avaient été protégés que par cette seule

immunité parentale, ils auraient succombés dans une proportion certainement très élevée lors de l'épreuve virulente pratiquée à l'âge de dix-sept jours. L'immunité parentale existe, mais la quantité d'anticorps dont hérite le poussin est assez réduite; en effet :

— Nous avons déjà relaté une expérience dans laquelle des poussins de quinze jours issus de poules immunisées ont succombé à 100 % à la suite de l'épreuve virulente (poussins témoins du chapitre 4 de la deuxième partie).

— D'autre part, dans l'expérience décrite ci-dessus, les vingt-cinq témoins B_0 ont aussi présenté des accidents post-vaccinaux. L'immunité parentale ne leur a donc pas permis de résister à l'infection par le virus-vaccin.

CHAPITRE SIXIÈME

ÉTUDE DES MODALITÉS DE LA VACCINATION PAR AÉROSOL

Nous allons tenter d'établir quelles sont les conditions nécessaires et suffisantes pour immuniser des poussins par aérosol, d'abord au laboratoire, puis dans la pratique.

A. Étude expérimentale au laboratoire. Recherche de la dose minima vaccinante par aérosol

Nous vaccinons avec le même appareillage que dans l'expérience précédente et dans les mêmes conditions. Le vaccin utilisé est du LCA de culture de virus B_1 frais titrant $10^{9,6}DL_{50}$ par ml.

1° *La vaccination*

Tous les poussins sont vaccinés de la même façon dans la même caisse à aérosol où ils séjournent dix minutes : seule la concentration de la solution vaccinale varie. La première dilution est de 10^{-7}, puis les dilutions sont dix fois plus faibles à chaque série de poussins, jusqu'à l'utilisation de LCA dédoublé.

Les poussins sont répartis comme suit :

Eleveuse 1 :

15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-7},
15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-6},
10 témoins.

Eleveuse 2 :

15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-5},
15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-4},
10 témoins.

Eleveuse 3 :

15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-3},
15 poussins vaccinés avec la dilution 10^{-2},
10 témoins.

Sous ces trois éleveuses, les témoins sont placés avec les poussins vaccinés aussitôt après la vaccination. Chaque groupe est identifié.

Eleveuse 4 :

28 poussins sont vaccinés avec du vaccin dédoublé (dilution 1/2), tout comme dans l'expérience précédente;

10 témoins sont placés sous la même éleveuse aussitôt après la vaccination; deux jours plus tard, ils sont placés sous l'éleveuse 5 de façon à éliminer la possibilité d'une vaccination lors d'éventuels accidents respiratoires post-vaccinaux de leurs congénères. Nous les appelons témoins temporaires;

10 témoins sont placés sous l'éleveuse 4, cinq heures après la vaccination. Ce sont les témoins tardifs.

Les poussins sont vaccinés à l'âge de sept jours. Ce sont des poussins de race New-Hampshire issus des mêmes parents que les poussins utilisés dans l'expérience précédente.

2° *Les suites vaccinales*

Le quatrième jour après la vaccination, nous remarquons que quelques poussins vaccinés avec les dilutions 10, 10^{-2}, 10^{-3}, présentent des éternuements. Ces signes respiratoires sont plus marqués le lendemain, mais sans aucune manifestation asphyxique. Le sixième jour, tout est rentré dans l'ordre. Les suites vaccinales ont donc été bénignes.

Le cinquième jour, nous avons deux morts accidentelles: un témoin dans l'éleveuse2 et un poussin vacciné avec la dilution 10^{-2}.

3° *L'épreuve virulente*

Nous réalisons l'épreuve virulente neuf jours après la vaccination, selon la technique habituelle de badigeonnage oculo-nasal bilatéral avec une solution à 1/10 de virus de Newcastle.

Les résultats de l'épreuve virulente sont groupés sur le tableau ci-contre où nous avons noté dans une même colonne verticale le nombre de poussins morts le même jour après l'épreuve virulente, en classant ces poussins dans leur groupe vaccinal.

Résultats :

Nous voyons donc que tous les poussins vaccinés par aérosol avec une dilution supérieure à 10^{-3} ont succombé

éleveuse	groupe vaccinal	3 jours après l'épreuve virulente	4 jours	5 jours	6 jours	Total des morts
I	I5 poussins 10^{-7}	2 morts	II morts	2 morts		I5
	I5 poussins 10^{-6}		I3 morts	2 morts		I5
	I0 témoins	3 morts	7 morts			I0
éleveuse 2	I5 poussins 10^{-5}		I3 morts		2 morts	I5
	I5 poussins 10^{-4}	2 morts	II morts	I mort		I4
	9 témoins	I mort	8 morts			9
éleveuse 3	I5 poussins 10^{-3}		2 morts		I mort	3
	I5 poussins 10^{-2}					0
	I0 témoins		I0 morts			I0
éleveuse 4	28 poussins vaccin dédoublé					0
	I0 témoins tardifs	I mort	3 morts	I mort		5
éleveuse 5	I0 témoins temporaires		I mort	I mort		2

à l'épreuve virulente. Les poussins vaccinés avec une dilution inférieure à 10^{-3} ont résisté. Trois des quinze poussins vaccinés avec la dilution 10^{-3} ont également succombé.

Donc, dans les conditions de cette expérience, l'immunisation est effective à la dilution 10^{-3} du vaccin frais pour être totale à la dilution 10^{-2}.

Conclusion

1. *Accidents post-vaccinaux*

— L'âge des poussins à la vaccination joue un rôle dans l'apparition de ces accidents, puisque ceux-ci ne se produisent pas ou sont minimes lorsque les poussins ont une semaine. Il n'y a alors qu'une simple réaction vaccinale.

— La dose agit également, car seuls les poussins vaccinés avec une dilution supérieure à 10^{-3} ont présenté cette réaction post-vaccinale. Il est à noter que les poussins n'ayant pas montré ces signes respiratoires post-vaccinaux n'ont pas été immunisés. Divers auteurs ont déjà rapporté une certaine corrélation entre ces signes respiratoires post-vaccinaux et l'apparition de l'immunité dans la vaccination contre la M.N. par la souche Hitchner B_1.

2. *L'immunisation des témoins*

— Les témoins s'immunisent par contact avec les poussins vaccinés si l'aérosol est suffisamment concentré. En effet, 80 % des témoins temporaires ont résisté à l'épreuve virulente. L'immunisation de ces poussins s'est sans doute faite par inhalation des particules d'aérosol

retenues par le duvet des sujets vaccinés ou expirées par ces derniers.

Les résultats obtenus avec les témoins tardifs ne permettent pas de dire si l'immunité partielle obtenue est due à une contamination du même ordre ou à une contamination par contact avec les poussins vaccinés au moment de la réaction vaccinale (4^{e}-5^{e} jour).

Dans l'expérience suivante, nous allons tenter de réaliser la vaccination par aérosol en nous rapprochant le plus possible des conditions de la pratique. Nous utiliserons concurremment le vaccin lyophilisé du commerce et le vaccin frais que nous avons titré précédemment. Nous nous baserons sur les résultats expérimentaux que nous venons d'obtenir montrant que les poussins étaient tous solidement immunisés dans les conditions suivantes :

— volume du caisson contenant les poussins: 144 litres;
— débit de l'appareil à aérosol : 17 litres d'aérosol par minutes;
— durée de la vaccination : 10 minutes;
— dilution du vaccin à partir de LCA congelé : 10^{-2};
— titrage du virus-vaccin sur embryons (DL_{50}) : $10^{-9,6}$;
— volume nébulisé (dilution à 10^{-2}) : 2,4 ml.

B. Essais pratiqués

Dans toutes les expériences précédentes, les aérosols étaient nébulisés dans des caisses de dimensions réduites où les poussins ne séjournaient que pendant un temps très restreint. Pour immuniser des poussins contre la M.N.

dans ces conditions, il est nécessaire de nébuliser une solution vaccinale concentrée.

Dans l'expérience ci-après, nous nébulisons le virus B_1 dans un local de 60 mètres cubes de volume. Nous disposons de deux locaux indépendants de même volume.

1° *La vaccination*

a) *Poussins de deux jours.*

Nous vaccinons trois lots de poussins avec du vaccin lyophilisé selon le processus suivant :

— *Lot A_1 :*

Il se compose de 20 poussins de race New Hampshire. Ces poussins sont placés sous une éleveuse dans le local I de 60 m^3. Nous nébulisons dans ce local 8 ml de vaccin lyophilisé concentré (préparé en diluant 10 ampoules dites de 100 doses dans 10 ml d'eau distillée). Le local reste clos pendant 24 heures : portes et fenêtres sont fermées, sans toutefois prendre de précautions particulières pour assurer une étanchéité parfaite. Les poussins sont donc au contact de l'aérosol pendant plusieurs heures. Le vaccin lyophilisé est titré : le millilitre contient $10^{7,7}DL_{50}$ pour l'embryon de dix jours.

Nous avons nébulisé dans ce local $8 \times 10^{7,7}DL_{50}$, soit environ $10^{8,5}DL_{50}$.

— *Lot B_1 :*

Il comprend 15 poussins de même race qui sont vaccinés selon le même processus dans le local II avec le même vaccin dilué à 1/10. Il a donc été nébulisé environ $10^{7,5}DL_{50}$ dans ce local.

— *Lot* C_1 :

15 poussins sont vaccinés dans le caisson utilisé pour les expériences de laboratoire en nébulisant 2,4 ml de vaccin lyophilisé dilué à 1/5. Ils sont laissés au contact de l'aérosol pendant dix minutes. Puis ils sont placés sous une éleveuse dans un local isolé.

Le lendemain, nous mettons dans ce même local, sous une autre éleveuse, les poussins A_1 et B_1.

Nous nous sommes arrêtés aux dilutions ci-dessus à la suite des conclusions des expériences précédentes. En effet, pour vacciner des poussins dans le caisson de 144 litres, il fallait nébuliser en dix minutes environ $2{,}4 \times 10^{9{,}6} \times 10^{-2}$, soit environ $10^8 DL_{50}$. En fait, l'aérosol n'est à saturation dans l'appareil que durant les dernières minutes de la vaccination. Nous avons donc pensé que dans un local de 60 m^3, soit 400 fois plus grand, il nous faudra une solution vaccinale ayant à peu près la même concentration, le temps d'exposition des poussins à l'aérosol étant environ 400 fois plus grand lui aussi. Ces calculs, très approximatifs, n'ont rien de mathématique et ne donnent qu'une échelle de grandeur. Pour immuniser des poussins dans ce local de 60 m^3, il semble donc que la dose minimum de vaccin à nébuliser soit de $10^8 DL_{50}$ pour l'embryon. C'est pourquoi nous avons choisi les doses de $10^{8,5}$ et $10^{7,5}$ pour les lots A_1 et B_1; et, craignant un échec lié à l'emploi de vaccin lyophilisé, nous avons vacciné un troisième lot C_1 dans le caisson étanche avec l'aérosol le plus concentré que nous ayons pu réaliser.

b) *Poussins de trois jours.*

Ces poussins sont vaccinés avec du vaccin frais obtenu à partir de LCA de culture de virus B_1 congelé titrant $10^{9,2}DL_{50}$ pour l'embryon par ml. Les poussins restent enfermés dans le local au contact de l'aérosol pendant vingt-quatre heures.

— *Lot A_2 :*

20 poussins de race New Hampshire sont vaccinés par nébulisation de 4 ml de LCA dilué à 1/10, soit plus de $10^{8}DL_{50}$. La vaccination est faite dans le local I utilisé la veille et que nous avons ventilé au préalable.

— *Lot B_2 :*

Nous vaccinons 20 poussins de même race en nébulisant 4 ml de virus frais dilué à 1/100 dans le local II. soit plus de $10^{7}DL_{50}$ pour l'embryon. Nous avons voulu, en réalisant des concentrations d'aérosol à peu près équivalentes en doses léthales pour l'embryon, avec le virus-vaccin lyophilisé d'une part, avec le virus-vaccin frais d'autre part, voir si la lyophilisation n'influe pas sur les résultats obtenus.

Les poussins sont placés sous la même éleveuse dans le local I vingt-quatre heures après la vaccination.

c) *Poussins de quatre jours.*

Le jour qui suit, nous vaccinons 15 poussins de même race dans le local II en nébulisant 4 ml de virus frais dédoublé, soit environ $10^{9,7}DL_{50}$. Le local reste fermé pendant vingt-quatre heures; ensuite, nous y laissons les poussins sous la même éleveuse.

2° *Les accidents post-vaccinaux*

Cinq jours après la vaccination, le premier groupe de poussins A_1, B_1, C_1, présentent des difficultés respiratoires sans caractère de gravité. Toutefois, l'un d'eux, un poussin C_1, meurt dix jours après la vaccination. Toute difficulté respiratoire a disparu cinq jours après la vaccination. Les poussins vaccinés les jours suivants et âgés de plus de trois jours à la vaccination ne présentent aucune réaction vaccinale.

III. *L'épreuve virulente*

Le onzième jour après la vaccination, nous éprouvons tous les poussins par badigeonnage oculo-nasal avec du virus de Newcastle virulent dilué à 1/10.

Tous les poussins résistent à cette épreuve virulente; aucun d'eux ne présente le moindre trouble.

Conclusions

De cette expérience, nous pouvons dégager les conclusions suivantes :

— La vaccination des poussins par nébulisation de virus-vaccin Hitchner B_1 est réalisable dans la pratique.

— Le poussin d'un jour s'immunise aussi bien que le poussin plus âgé, mais il est plus sensible à l'action locale du virus sur les voies respiratoires. Le poussin de trois jours a une plus grande résistance et il est préférable de ne pas vacciner les poussins par aérosol avant cet âge.

— A concentration égale, le virus lyophilisé est aussi efficace que le virus frais.

— Il est difficile de fixer une quantité de virus optimum pour vacciner des poussins par aérosol. Il semble qu'en nébulisant dans un local une ampoule dite de 100 doses par 10 m^3, les risques d'échecs de vaccination soient minimes ou nuls. Pour des volumes égaux ou inférieurs à 10 m^3, il sera prudent de diluer deux ampoules de vaccin; en effet, les titrages que nous avons fait nous ont montré que la concentration de ces ampoules est irrégulière. La quantité de virus-vaccin à nébuliser est fonction du volume du local où se trouvent les poussins à vacciner et non du nombre de ces poussins qui n'est limité que par la capacité du local, donc pratiquement par sa surface.

CONCLUSION

L'étude bibliographique et les expériences que nous avons réalisées nous ont permis de faire le point sur la souche Hitchner B_1 et son utilisation par aérosol pour vacciner des poussins. Voici résumés les résultats que nous avons obtenus :

1. La vaccination par voie intramusculaire immunise en trois à quatre jours;

La vaccination par aérosols immunise en cinq jours:

La vaccination par voie oculo-nasale immunise en six jours;

La vaccination par « vaccin buvable » est d'une efficacité relative.

2. L'immunité consécutive à la vaccination par aérosols dure plus de dix-huit semaines.

3. Le poussin d'un jour, même issu de parents immunisés, s'immunise aussi fortement que le poussin plus âgé si la dose de vaccin utilisée est suffisante.

4. Les poussins peuvent se vacciner au contact d'autres poussins vaccinés dans les heures ou les jours qui suivent.

5. La vaccination par aérosol n'est pas toujours inoffensive sur de jeunes poussins et les poussins de moins

de trois jours présentent des accidents post-vaccinaux de trachéo-bronchite qui peuvent entraîner la mort. Ces accidents ne se produisent pas à partir du troisième jour.

Nous pensons que la souche Hitchner B_1 doit être utilisée de la manière suivante dans la lutte contre la Maladie de Newcastle :

1. *Vaccination à partir du troisième jour par aérosol*

L'administration par « vaccin buvable » étant inefficace, le seul moyen d'assurer une vaccination de masse est l'administration par aérosol, mais la mise au point de cette méthode nécessite encore quelques essais pratiques. Si l'on tient compte des résultats que nous avons obtenus, ces essais peuvent être faits dans les élevages sans aucun danger et avec de grandes chances de réussite.

Il serait souhaitable de disposer d'un appareillage plus pratique que la colonne Jouan que nous avons utilisée pour nos expériences. Nous avons essayé un pulvérisateur identique à ceux utilisés pour aérosoliser les insecticides, type Fly-Tox, le brouillard vaccinal est dirigé sur les poussins : tous les poussins ainsi vaccinés ont résisté à l'épreuve virulente.

Nous aurions voulu inclure le virus-vaccin B_1 dans des bombes à aérosol: nous n'avons pas eu la possibilité matérielle d'étudier ce problème. Cependant, il nous semble que la réalisation de ces bombes-vaccins n'est pas impossible. Pour vacciner, il suffirait de vider cette « bombe-vaccin » dans le local où se trouvent les poussins en prenant la précaution d'en fermer les ouvertures pendant les heures qui suivent la vaccination.

2. *Vaccination de rappel à quatre mois*

Nous avons établi que dix-huit semaines après la vaccination, l'immunité est encore solide. Les poulets de chair sont donc protégés jusqu'à leur sacrification. Il n'en est pas de même si les volailles sont élevées pour la production des œufs. De plus en plus, ces volailles sont élevées en claustration et à l'âge de quatre mois, elles peuvent donc être vaccinées contre la Maladie de Newcastle en nébulisant le vaccin Hitchner B_1 dans le local où elles se trouvent.

La vaccination des poussins et des poulets par aérosol nécessite encore quelques essais avant d'être couramment pratiquée, mais elle est possible, efficace et sans danger sur des poussins de plus de trois jours. C'est certainement la méthode de vaccination la plus rapide et la plus élégante, la solution d'avenir, non seulement dans la lutte contre la Maladie de Newcastle, mais également contre la Variole Aviaire, la Bronchite Infectieuse et probablement contre d'autres maladies.

Vu : *Le Professeur de l'École Vétérinaire,*
Rapporteur,
SAURAT.

Vu : *Le Directeur de l'École Vétérinaire,*
P. PONS.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
ANDRIEU.

Vu : *Le Doyen,*
LAZORTHES.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Toulouse, le 21 novembre 1960.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. Brandly (C.A.), Moses (H.E.), Jones (E.E.) and Jungherr (E.L.). — Immunization of chickens against Newcastle Disease. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7, 307-32.

2. Brandly (C.A.), Moses (H.E.) and Jungherr (E.L.). — Transmission of antiviral activity via the egg and the role of congenital passive immunity to Newcastle Disease in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7, 333-342.

3. Dardiri (A.H.), Chang (P.W.) et Fry. — Etude sur le pouvoir immunigène de trois types de vaccin anti-Newcastle pour les poulets d'engraissement. *Am. J. Vet. Res.*, 1957, 18, 400-404.

4. Doll (E.R.), McCollum (W.T.) and Wallace (M.E.). — Immunization of chicks hatched from hens immunized against Newcastle Disease. *Vet. Med.*, 1950, 45, 365-369.

5. Goret (P.), Aycardi (J.), Pilft (Ch.) et Guillaume (Y.). — Recherches expérimentales et pratiques sur l'immunisation contre la Maladie de Newcastle à l'aide d'un virus-vaccin buvable (souche Hitchner B1). *Bull. Soc. S. V. Prat.*, 1958, 42, 426-444.

6. Hitchner (S.B.) and Johnson (E.P.). — A virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle Disease. *Vet. Med.*, 1948, 43, 525.

7. Hitchner (S.B.). — Further observation on a virus of low virulence for immunizing fowls against Newcastle Disease. *Cornell Vet.*, 1948, 40, 525-530.

8. Hitchner (S.B.). — Characteristics of the B1 strain of Newcastle Disease virus. *Am. J. Vet. Res.*, 1951, 246.

9. Hofstad (M.S.). — The immune response in chickens following the use of three different types of inactived Newcastle Disease vaccine. *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1956, 1122.

10. Johnson (E.P.). — The results from various methods of administering B1 Newcastle Disease vaccines *Proc. 92nd. Ann. Meet. Am. Vet. Med. Ass.*, 1955, 329.

11. Johnson (E.P.) and Gross (W.B.). — Vaccination against Pneumoencephalitis (Newcastle Disease) by atomization or nebulization with the B1 virus. *Vet. Med.*, 1951, 46, 55-59.

12. Johnson (E.P.) and Gross (W.B.). — Vaccination against Pneumoencephalitis (Newcastle Disease) by atomization or nebulization in incubators or chicks boxes with B1 virus. *Vet. Med.*, 1952, 46, 364-371.

13. Lissot (G.). — Vaccination du poussin d'un jour par voie buccale et particulièrement contre la Peste aviaire (variété de Newcastle). *Bull. de l'Académie Vétérinaire*, 1956, 295.

14. Lucam. — La Peste aviaire. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1956, 790.

15. Markham (F.S.), Bottorf (C.A.) and Cox (H.R.). — The conjonctival application of Newcastle Disease vaccine (intranasal type) in parentally immune and susceptible chicks. *Cornell Vet.*, 1951, 51, 267-282.

16. Pernelle. — Immunisation active dans la Maladie de Newcastle. *Thèse Doctorat Vétérinaire*, Lyon, 1953.

17. Pierre. — Perspectives nouvelles de la vaccination contre la Maladie de Newcastle. *Bull. Soc. Méd. Vét.*, 1955, 419.

18. Placidi (L.), Santucci (J.) et Hérault (M.). — Sur la vaccination contre la Maladie de Newcastle. Un échec suggestif. *Bull. Académie Vétérinaire,* mars 1959, 177, juillet 1959.

19. Reed (L.J.) and Muench (H.). — A simple method of estimating Fifty per Cent end points. *Am. J. Hygiene,* 1938, 27, 493-497.

20. Saurat (P.) et Lautie (R.). — Sur une variante de l'Inhibition de l'Hémagglutination dans la Maladie de Newcastle. L'IHA rapide sur lame. *Revue de Médecine Vétérinaire,* janvier 1957, 28.

21. Shoening (H.W.) et Thompson (C.H. Jr). — La vaccination contre la Maladie de Newcastle aux Etats-Unis. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1955, 44, 119.

22. Sinha (S.K.), Hanson (R.P.), Brandly (C.A.). — Aérosol transmission of Newcastle Disease in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 1954, 287.

23. Tchentchef. — Rapports entre le système nerveux, l'infection et l'immunité dans le cas de pseudo-Peste Aviaire. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1957, XLVIII, 425-429.

24. Van Waveren (G.M.). — Vaccination contre la Maladie de Newcastle. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1954, 44, 107.

25. Van Waveren (G.M.) et Zuidjam. — Vaccination tegen pseudovogelpest (Newcastle Disease) Door het mengen van entstoft door het drinkwater. *Tijdsch. f. Diergeenesk,* 1955, 80, 685.

26. Winterfield, Goldman (C.L.) ans Seadale. — Vaccination of chickens with B1, F and Lasota strains of Newcastle disease virus administered trought the drinking water. *Poultry Sc.*, 1957, 36, 1076-1088.

27. Winterfield (R.W.) and Seadale (E.H.). — Newcastle disease immunization studies.

I. Viability of Newcastle Disease virus administered as a vaccine in the drinking water. *Am. Vet. Res.*, 1956, 36, 54.

II. The immune response of chickens vaccinated with B1 Newcastle Disease virus administered trought the drinking water.

III. The immune response of chickens vaccinated with B1 Newcastle Disease virus administered throught the drinking water under field conditions. *Poultry Sc.*, 1957, 36, 54-65.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 9

PREMIÈRE PARTIE 11

Chapitre premier. — La Maladie de Newcastle. 11

Historique, épidémiologie, étiologie 11

Symptômes, pronostic, lésions, diagnostic, prophylaxie 14

Chapitre 2. — Expériences préliminaires 27

DEUXIÈME PARTIE 31

Chapitre premier. — Titrage du vaccin 31

Chapitre 2. — Essais comparatifs des différentes voies d'administration 35

Chapitre 3. — Durée de l'immunité conférée par l'administration du vaccin en aérosol 45

Chapitre 4. — Etude de l'immunisation de poussins issus de reproductrices vaccinées contre la Maladie de Newcastle 53

Chapitre 5. — Relation entre l'âge du poussin et sa capacité d'immunisation 55

A. Vaccination du poussin d'un jour par aérosol 55

B. Vaccination du poussin d'un jour par voies intramusculaire et oculo-nasale.. 57

C. Relation entre l'âge du poussin, son immunité naturelle et ses capacités d'immunisation. 58

Chapitre 6. — Etude des modalités de la vaccination par aérosol. 67

A. Etude expérimentale. 67

B. Essais pratiqués. 72

Conclusion. 79

Bibliographie. 83